

Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11) EP 0 795 334 A2

(12) **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(43) Veröffentlichungstag:
17.09.1997 Patentblatt 1997/38

(51) Int. Cl.⁶: A61K 47/48

(21) Anmeldenummer: 97103162.0

(22) Anmeldetag: 27.02.1997

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT BE CH DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU NL
PT SE
Benannte Erstreckungsstaaten:
SI

(30) Priorität: 12.03.1996 EP 96103866

(71) Anmelder: HOECHST AKTIENGESELLSCHAFT
65929 Frankfurt am Main (DE)

(72) Erfinder:
• Bosslet, Klaus, Dr.
35037 Marburg (DE)

- Czech, Jörg, Dr.
35041 Marburg (DE)
- Gerken, Manfred, Dr.
35041 Marburg (DE)
- Straub, Rainer, Dr.
35037 Marburg (DE)
- Monneret, Claude, Dr.
75012 Paris (FR)
- Florent, Jean-Claude, Dr.
91940 Les Ulis (FR)
- Schmidt, Frederic
94300 Vincennes (FR)

(54) **Neuartige Prodrugs für die Therapie von Tumoren und entzündlichen Erkrankungen**

(57) Es werden Verbindungen der Formel I

Glykosyl-Y[-C(=Y)-X-]_p-W(R)_n-Z-C(=Y)-Wirkstoff (I)

beschrieben, die sich zur Behandlung von Krebserkrankungen, Autoimmunerkrankungen und chronisch entzündlicher Erkrankungen wie rheumatische Arthritis eignen.

EP 0 795 334 A2

0 min: 15 % A, 85 % B
 15 min: 75 % A, 25 % B
 25 min: 75 % A, 25 % B
 27 min: 15 % A, 85 % B
 5 35 min: 15 % A, 85 % B

Es wurden folgende Peakflächen gefunden:

Zeit min	F 373 Verbdg. 7		Spacer Verbd. 15
	RT=12,6	RT=10,7	RT=14,1
0	19,41	0	0
1	10,46	3,32	1,92
5	0,35	7,43	4,75
7	0	7,33	5,37
10	0	6,79	5,43
15	0	5,58	5,43
20	0	4,00	5,70
25	0	0,88	6,53
60	0		

Beispiel 6: Zytotoxizität von F 373, 391, 392 auf Tumorzellen in An- und Abwesenheit von β -Glucuronidase

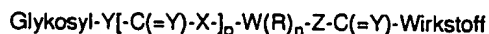
30 In einer 96-Well Mikrotiterplatte wurden 2×10^3 LoVo-Zellen pro well in 100 μ l MEM + 10% FKS ausgesät. Nach 24 h wurden die Testsubstanzen in 100 μ l Medium in der gewünschten Konzentration und gegebenenfalls zusätzlich β -Glucuronidase (50 μ g/ml Endkonzentration; Sigma G 7896) dazugegeben. Jede Gruppe bestand aus 4 wells, die Kontrolle wurde nur mit Medium inkubiert. Nach 65 h wurden 50 μ l MTT (2.5 mg/ml in PBS) hinzugegeben und nach 3 h der Überstand entfernt. Der von den lebenden Zellen gebildete Farbstoff wurde durch Zugabe von 100 μ l DMSO/well gelöst. Die Extinktion wurde für jedes well mit Hilfe eines Multiscan Photometers 340 CC (Fa. Flow) bei 492 nm gemessen. Die Werte der 4 wells pro Gruppe wurden gemittelt und daraus die Dosis-Wirkungskurve sowie die IC_{50} mit der Software GraFit 3.0 berechnet.

Substanz (Prodrug)	ohne β -Gluc. IC_{50} in μ mol	mit β -Gluc. IC_{50} in μ mol
F 373	> 500	6.3
F 391	> 400	113
45 F 392	> 400	49.5

Die toxische Verbindung im Prodrug F 373 ist Verbindung 7 (Beispiel 1, Seite 13) und hat alleine getestet eine IC_{50} von 5 μ mol. Die toxische Verbindung im Prodrug F 391 ist Quinin und hat alleine getestet eine IC_{50} von 103 μ mol. Die toxische Verbindung im Prodrug F 393 ist Dipyridamol und hat alleine getestet eine IC_{50} von 43 μ mol.

Patentansprüche

55 1. Verbindung der Formel I



(I)

und/oder physiologisch verträgliche Salze der Verbindung der Formel I, wobei

	Glykosyl für W für	ein enzymatisch abspaltbares Poly-, Oligo- oder Monosaccharid steht,
5		1) 5- bis 14-gliedriger aromatischer Rest, 2) Naphthyl, 3) Indenyl, 4) Anthryl, 5) Phenanthryl, 6) ein 5- bis 14-gliedriger heterozyklischer Rest mit 1, 2, 3 oder 4 Heteroatomen aus der Gruppe Sauerstoff, Stickstoff und Schwefel, 7) (C ₁ -C ₆)-Alkyl, 8) (C ₂ -C ₆)-Alkenyl, 9) (C ₃ -C ₆)-Cycloalkyl oder 10) Phenyl steht,
10		
15	R für	
20		1) Wasserstoffatom, 2) (C ₁ -C ₄)-Alkyl, 3) Phenyl, 4) Methoxy, 5) Carboxy, 6) Methyloxycarbonyl, 7) -CN, 8) -OH, 9) -NO ₂ , 10) Halogen wie Fluor, Chlor oder Brom, 11) Sulfonyl, 12) Sulfonamid oder 13) Sulfon-(C ₁ -C ₄)-alkylamid steht,
25		
30		
35	p für n für X für	Null oder 1 steht, Null, 1, 2 oder 3 steht,
40		1) Sauerstoffatom, 2) -NH-, 3) Methylenoxy, 4) Methylenamino, 5) Methylen-(C ₁ -C ₄)-alkylamino, 6) (C ₁ -C ₄)-Alkylamino oder 7) (C ₃ -C ₆)-Cycloalkylamino steht,
45	Y für Z für	Sauerstoffatom oder -NH- steht,
50		1) (C ₁ -C ₄)-Alkylamino, 2) -N(CH ₃)-, 3) -C(CH ₃) ₂ -NH-, 4) -CH(CH ₃)-NH-, 5) -C(CH ₃) ₂ -N(R ²)-, worin R ² (C ₁ -C ₄)-Alkyl bedeutet, oder 6) -NH-, wenn W für (C ₁ -C ₆)-Alkyl, steht, und
55	Wirkstoff für	eine Verbindung mit biologischer Wirkung steht, die über einen Sauerstoffrest, primären oder sekundären Aminorest oder einen Iminorest gebunden ist.

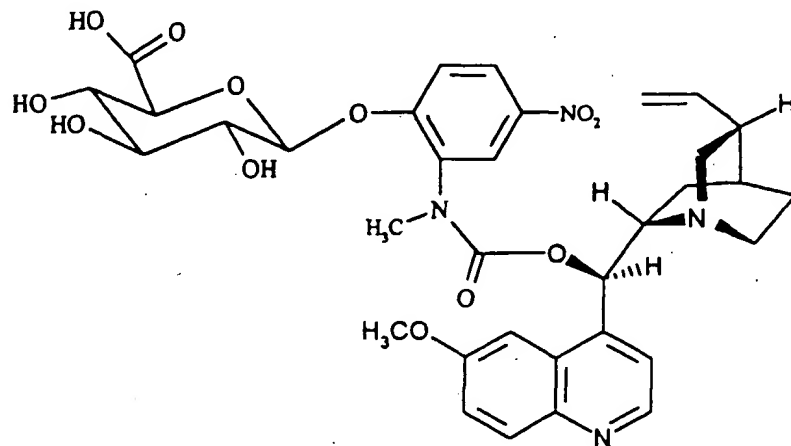
2. Verbindung der Formel I nach Anspruch 1, wobei

Glykosyl für eine enzymatisch abspaltbare Glukuronsäure steht,

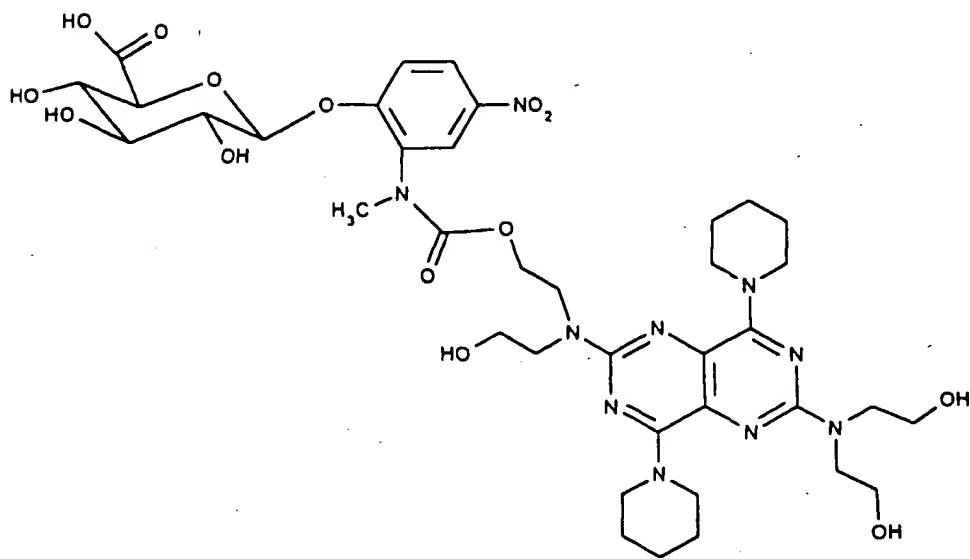
W für Phenyl steht,
 R für Wasserstoffatom, CN, Nitro, Fluor, Chlor, Brom steht,
 p Null ist,
 n für eine ganze Zahl Null, 1 oder 2 steht,
 Y für Sauerstoffatom steht,
 Z für -N(CH₃)-, -C(CH₃)₂-NH-, -CH(CH₃)-NH-, -C(CH₃)₂-N(C₁-C₄)-alkyl-, -CH(CH₃)-N(C₁-C₄)-alkyl-
 steht.

3. Verbindung der Formel I nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindung der Formel I

2-[N-Methyl-N-[(4-(N,N'-bis-(2-chloroethyl)amino)phenyloxycarbonyl)amino]-4-nitrophenyl-β-D-glucuronsäure,
 2-[N-Methyl-N-[(4-(N,N'-bis-(2-iodoethyl)amino)phenyloxycarbonyl)amino]-4-nitrophenyl-β-D-glucuronsäure,

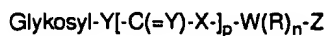


oder



ist.

4. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel I, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel II,



(II)

worin die Reste Glykosyl, Y, X, p, W, R, n und Z die in Formel I nach Anspruch 1 genannte Bedeutung haben, mit einem Wirkstoff, der einen aktivierten Carboxyl-, Amino- oder Iminoest hat, umgesetzt, wobei die Umsetzung in Gegenwart eines Lösungsmittels aus der Gruppe Acetonitril, Dioxan, Tetrahydrofuran, Dichlormethan, Dimethylformamid, Aceton erfolgt und anschließend die Schutzgruppen hydrolytisch abgespalten werden.

5. Arzneimittel, gekennzeichnet durch einen wirksamen Gehalt an mindestens einer Verbindung der Formel I nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3, und/oder eines physiologisch verträglichen Salzes der Verbindung der Formel I, wobei die Reste Glykosyl, Y, X, p, W, R, n, Z und Wirkstoff wie in Formel I nach Anspruch 1 definiert sind, zusammen mit einem pharmazeutisch geeignetem und physiologisch verträglichen Trägerstoff, Zusatzstoff und/oder anderen Wirk- und Hilfsstoffen.
6. Verwendung der Verbindung der Formel I nach Anspruch 1 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Prophylaxe und Therapie von Krebserkrankungen, Autoimmunerkrankungen und chronisch entzündlicher Erkrankungen wie rheumatische Arthritis.
7. Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels, dadurch gekennzeichnet, daß man mindestens eine Verbindung der Formel I nach Anspruch 1 mit einem pharmazeutisch geeigneten und physiologisch verträglichen Träger und gegebenenfalls weiteren geeigneten Wirk-, Zusatz- oder Hilfsstoffen in eine geeignete Darreichungsform bringt.
8. Pharmazeutische Zubereitung, enthaltend eine Verbindung der Formel I nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 und ein Antikörper-Enzym-Konjugat, das den Glykosylrest in der Formel I enzymatisch spalten kann.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☒ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKewed/SLANTED IMAGES**
- ☒ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.